



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

**Importância do transcrito de fusão F1PILI-PDGFRA na
ausência de eosinofilia periférica: caso clínico e revisão da
literatura**

Pedro de Vasconcelos e Monteiro

Orientador: Doutora Catarina Mota

Serviço de Medicina II-B, Clínica Universitária de Medicina II

Hospital Universitário de Santa Maria, Centro Hospital Lisboa Norte

2015/2016 / Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

Resumo

A presença de eosinofilia periférica proeminente e persistente é uma das características de definição das Neoplasias Mielóides e Linfóides associadas a Eosinofilia e Anormalidades do PDGFRA. Nos doentes com leucemia eosinofílica crónica em quem se detecta a presença do transcrito de fusão F1PILI-PDGFRA sensível aos inibidores da tirosina quinase, a existência de sintomatologia clinicamente significativa é pouco frequente e a esplenomegália é o achado físico mais comum. Apesar da ausência de eosinofilia periférica e envolvimento de órgão-alvo no caso que se apresenta, a detecção de alterações medulares e genéticas específicas sugerem fortemente esta entidade. Os autores discutem o significado da detecção do F1PILI-PDGFRA sem eosinofilia periférica no diagnóstico de neoplasias mielóides, assim como o seu impacto na abordagem terapêutica e definição prognóstica da entidade.

Abstract

Prominent sustained blood eosinophilia is currently a defining hallmark for Myeloid and Lymphoid Neoplasms with Eosinophilia and Abnormalities of PDGFRA. In patients with chronic eosinophilic leukemia demonstrating the tyrosine kinase inhibitors sensitive fusion-transcript FIP1L1-PDGFRA, significant clinical symptoms are infrequent and splenomegaly is the most common physical finding. The authors present a case of FIP1L1-PDGFRA fusion transcript detection in the setting of medullar eosinophilia without peripheral eosinophilia or organ involvement. A brief discussion of the significance of FIP1L1-PDGFRA without peripheral eosinophilia in the diagnosis of myeloid neoplasms, along with its impact on therapeutic approach and prognosis definition, is presented.

Introdução

As entidades hematológicas que cursam com eosinofilia são pouco comuns e podem resultar em lesão importante de órgão-alvo. Praticamente todos os sistemas de órgãos são susceptíveis a infiltração eosinofílica, apresentando-se contudo com maior tropismo a pele (69%), pulmões (44%), tracto gastrointestinal (38%) e coração (20%)¹. Os sinais e sintomas mais frequentemente associados a estas doenças são o cansaço (26%), tosse (24%), dispneia (16%), mialgias ou angioedema (14%), *rash* ou febre (12%) e rinite (10%)².

Os valores de referência para a contagem absoluta de eosinófilos (CAE) no sangue periférico estão compreendidos entre 350-500/mm³, correspondendo a 3-5% da percentagem total de leucócitos. A eosinofilia pode ser dividida em ligeira (CAE ≤ 1500/mm³), moderada (1500 < CAE ≤ 5000/mm³) e severa (CAE > 5000/mm³)³. Pode ainda considerar-se o termo Hipereosinofília (HE) para eosinofilia marcada (CAE > 1500/mm³) e persistente (durante pelo menos 6 meses) sem lesão de órgão-alvo⁴.

Perante um quadro de eosinofilia existe um algoritmo delineado para a investigação etiológica. Inicia-se com a exclusão de causas secundárias/reactivas, que são as mais comuns e parecem estar associadas a processos mediados por citocinas inflamatórias, nomeadamente a Interleucina 5 (IL-5)⁵. Nos países em desenvolvimento a etiologia predominante é infecção por parasitas⁶, cuja frequência passa para segundo lugar no mundo ocidental⁷. Alergia/atopia, reacções de hipersensibilidade, certas doenças do tecido conjuntivo e endocrinopatias, entre outras, são causas de eosinofilia que também devem ser excluídas na marcha diagnóstica⁸. Apesar de não existir especificidade para qualquer tipo de tumor, as neoplasias sólidas, através de síndromes paraneoplásicas, devem ser consideradas⁹. Equaciona-se ainda a possibilidade de neoplasias hematológicas não mielóides, particularmente o Linfoma Não-Hodgkin de Células T¹⁰, que através da produção de certas citocinas promove a diferenciação e sobrevivência eosinofílica⁸.

A classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) para neoplasias linfóides e mielóides foi reformulada em 2008, em grande parte devido à incorporação de novas informações morfológicas, citogenéticas e imunofenotípicas que revolucionaram a abordagem destas entidades (Tabela 1). Deste modo foi introduzida uma nova categoria – Neoplasias Mielóides e Linfóides associadas a Eosinofilia e Rearranjos do PDGFRA (*platelet-derived growth factor receptor alfa*), PDGFRB (*platelet-derived growth factor receptor beta*) ou FGFR1 (*fibroblast growth factor receptor 1*)¹¹. À semelhança da

leucemia mielóide crónica (LMC), em que está bem documentada a presença da tirosina quinase mutante BCR-ABL1, a detecção destes rearranjos é altamente sugestiva desta nova categoria. Em particular, o transcrito de fusão FIP1L1-PDGFR α (F/P), resultante de um rearranjo do PDGFR α que advém de uma deleção intersticial no cromossoma 4q12, está associada ao desenvolvimento destas recém introduzidas neoplasias. A detecção deste transcrito de fusão tem elevado interesse terapêutico devido à particular sensibilidade a inibidores da tirosina quinase (TKI), como previamente documentado na LMC BCR-ABL1 positiva¹². Salienta-se ainda que as neoplasias mielóides associadas a eosinofilia e anormalidades das proteínas supramencionadas apresentam tipicamente proliferação eosinofílica medular¹³.

TABLE 1. 2008 World Health Organization (WHO) Classification of Myeloid Malignancies

1. Acute myeloid leukemia and related disorders
2. Myeloproliferative neoplasms (MPN)
 - Chronic myelogenous leukemia, *BCR-ABL1* positive
 - Chronic neutrophilic leukemia
 - Polycythemia vera
 - Primary myelofibrosis
 - Essential thrombocythemia
 - Chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified
 - Mastocytosis
 - Myeloproliferative neoplasms, unclassifiable
3. Myelodysplastic syndromes (MDS)
 - Refractory cytopenia with uni-lineage dysplasia
 - Refractory anemia
 - Refractory neutropenia
 - Refractory thrombocytopenia
 - Refractory anemia with ring sideroblasts
 - Refractory cytopenia with multilineage dysplasia
 - Refractory anemia with excess blasts (RAEB)
 - RAEB-1
 - RAEB-2
 - Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)
 - Myelodysplastic syndrome, unclassifiable
4. MDS/MPN
 - Chronic myelomonocytic leukemia
 - CMML-1
 - CMML-2
 - Atypical chronic myeloid leukemia, *BCR-ABL1* negative
 - Juvenile myelomonocytic leukemia
 - MDS/MPN, unclassifiable
 - Refractory anemia with ring sideroblasts and thrombocytosis (RARS-T)
5. Myeloid and lymphoid neoplasms associated with eosinophilia and abnormalities of *PDGFRA*, *PDGFRB*, or *FGFR1*
 - Myeloid and lymphoid neoplasms associated with *PDGFRA* rearrangement
 - Myeloid neoplasms associated with *PDGFRB* rearrangement
 - Myeloid and lymphoid neoplasms associated with *FGFR1* abnormalities.

Tabela 1 - Classificação da OMS de 2008 para Neoplasias Mielóides.⁸

Apresenta-se o caso de um doente em que o rearranjo F/P foi detectado no contexto de eosinofilia medular mas sem eosinofilia periférica ou infiltração de órgão. Discute-se a importância deste achado no contexto de contagens periféricas de eosinófilos dentro dos valores normais, o seu potencial impacto na redefinição dos critérios de diagnóstico introduzidos pela OMS em 2008, assim como a sua abordagem terapêutica e prognóstico.

Caso Clínico

Apresenta-se o caso de uma mulher de 29 anos, leucodérmica, com antecedentes pessoais de rinite alérgica e trombose venosa profunda da veia femoral esquerda aos 22 anos, destacando-se do estudo etiológico realizado heterozigotia para a variante da protrombina 20210.

Aos 28 anos inicia quadro de astenia e labilidade emocional. À observação encontrava-se corada e hidratada, sem adenomegalias superficiais palpáveis, hemodinamicamente estável e sem alterações ao exame neurológico, cardio-pulmonar, abdominal e dos membros. A avaliação analítica revelou macrocitose sem anemia com hemoglobina de 13.2 g/dL, volume globular médio de 100.4 fl e hemoglobina globular média de 33.8 pg, sem outras alterações de relevo. Apresentava uma discreta folatopénia de 4.3 nmol/L, tendo iniciado suplemento de ácido fólico 5 mg/dia. Um ano depois, mantendo astenia e macrocitose persistente, com folatopénia corrigida e sem outras alterações clínico-laboratoriais, realizou mielograma que revelou série granulocítica com aumento dos elementos eosinofílicos (10% da celularidade total) em todos os estados maturativos. Realizou ecocardiograma transtorácico e provas de função respiratória, sem alterações. Perante este quadro de eosinofilia medular, sem repercussão periférica e/ou sistémica, iniciou-se extensa investigação etiológica para exclusão de entidade primária ou secundária para os achados hematológicos, da qual se destaca: serologia VIH 1 e 2 e exame parasitológico das fezes negativos, factor reumatoide, anticorpos anti-citrulina, antinucleares e anticitoplasma de neutrófilo com especificidade para mieloperoxidase negativos, função supra-renal e doseamento de IgE sérica normais. A tomografia axial computadorizada toraco-abdomino-pélvica não revelava alterações. Tendo-se excluído as causas mais frequentes de eosinofilia secundária, prosseguiu-se para a investigação de clonalidade. A triptase sérica estava normal. O estudo do cariótipo não mostrou alterações. A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) revelou a presença de transcritos de fusão F/P, resultantes da deleção no cromossoma 4q12. Perante os achados clínico-laboratoriais descritos e apesar da inexistência de eosinofilia periférica, admitiu-se a hipótese de neoplasia mieloide com alteração de PDGFRA em fase precoce. A doente foi encaminhada para Consulta de Hematologia, onde mantém seguimento e vigilância, tendo-se decidido em reunião multidisciplinar intervir terapêuticamente caso surja eosinofilia periférica moderada e/ou sintomatologia ou envolvimento de órgão-alvo.

Discussão

O diagnóstico diferencial de Eosinofilia é complexo e o enquadramento clínico desta alteração hematológica é importante para a decisão terapêutica e prognóstico do doente. A maioria das eosinofilias são reactivas, processos policlonais mediados por citocinas, nomeadamente a IL-5, que promovem a proliferação eosinofílica e dos seus precursores⁵. O mecanismo patofisiológico subjacente ao aumento de produção desta citocina é variável, dependendo da patologia de base. Existem ainda outras citocinas, como a Interleucina 3 (IL-3), *Granulocyte macrophage colony-stimulating factor* (GMCSF) e Interleucina 4 (IL-4), que podem estar associadas ao aumento do número de eosinófilos, neste caso com um aumento concomitante da IgE^{2,14}.

Nos países desenvolvidos a causa mais comum de eosinofilia são as reacções alérgicas/atopia, que constituem cerca de 80% das etiologias⁷. Como na maior parte das eosinofilias reactivas, a produção de IL-5 é dependente dos Linfócitos T-helper 2 (Th2). A segunda causa mais comum é a infecção por parasitas invasores de tecido, que nos representa a principal etiologia nos países em desenvolvimento^{6,7}. O organismo mais frequentemente documentado é o Helminta, como o *Strongyloides stercoralis*. Várias outras patologias médicas estão associadas a eosinofilia. A doença de Addison, através da falência supra-renal e diminuição da síntese de glicorticóides (inibidores da proliferação e sobrevivência eosinofílica) está muitas vezes associada a eosinofilia^{15,16}. Em doentes críticos este achado é particularmente comum¹⁷. Várias Doenças do Tecido Conjuntivo (Artrite Reumatóide, Lupus Eritematoso Sistémico, Granulomatose Eosinofílica com Polangite e Granulomatose com Poliangite), Doenças Pulmonares Eosinofílicas (Aspergilose Alérgica Broncopulmonar, Pneumonia Eosinofílica Aguda ou Crónica) e Doenças Dermatológicas (Dermatite Herpetiforme e Pênfigo Bulhoso)^{18,19} estão também associadas a eosinofilia.

As neoplasias sólidas, através de síndromes paraneoplásicas com produção de IL-5, IL-3 e GMCSF, também devem ser consideradas como causa de eosinofilia²⁰. Apesar de não existir especificidade para qualquer tipo de tumor, estão relatadas na literatura eosinofilias paraneoplásicas em quadros de neoplasias sólidas da cabeça, pescoço, pulmão, tracto gastrointestinal, ovário e colo do útero. A sua prevalência é de 0.5% a 7%.⁹

No diagnóstico diferencial de quadro de eosinofilia, incluem-se também neoplasias hematológicas não mielóides em que a produção de certas citocinas induz a

diferenciação e sobrevivência eosinofílica⁸. De acordo com um estudo conduzido em 2015 a neoplasia hematológica mais frequentemente associada a hipereosinofilia é o Linfoma Não-Hodgkin de Células T¹⁰. Uma vez que as células de *Reed-Stenberg* são capazes de recrutar directamente eosinófilos, ocorre eosinofilia em cerca de 15% dos casos de Linfoma de Hodgkin, em particular nos subtipos de celularidade mista e esclerose nodular. Cerca de 10% das Leucemias/ Linfomas Agudas de células T (LLA-T), 2-20% dos Linfomas Não-Hodgkin de células T e certos casos de Leucemia Aguda Linfoblástica de Células B estão associados a eosinofilias mediadas pela IL-5²¹. Considera-se ainda a entidade Variante Linfocítica do Síndrome Hipereosinofílico. Neste caso a eosinofilia periférica é sustentada por clones de Linfócitos Th2 que podem apresentar diferentes fenótipos (CD³⁺CD⁴⁺CD⁸⁻, CD³⁻CD⁴⁺)²². Apesar de não haver um método de diagnóstico bem definido, níveis elevados de IgE e TARC (*Thymus and activation-regulated chemokine*) no sangue periférico, demonstração de receptores de Linfócitos T rearranjados clonalmente e observação *in vitro* de um aumento da produção de citocinas por Linfócitos T em cultura são sugestivos desta entidade. Cerca de 25% destes doentes desenvolve algum tipo de neoplasia de Linfócitos T¹⁴.

Excluídas as causas reactivas, a pesquisa de causas clonais é o passo seguinte no algoritmo diagnóstico (Figura 1).

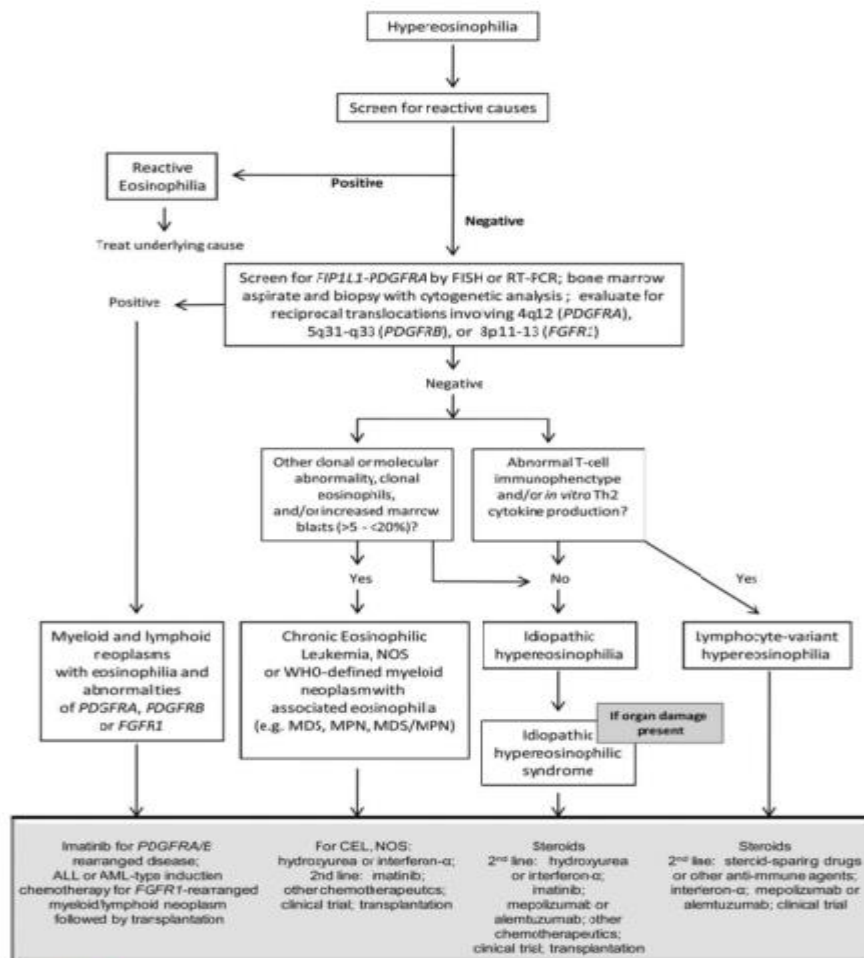


Figure 1. Diagnostic and treatment algorithm based on 2008 WHO classification of eosinophilic disorders.

Figura 1 – Algoritmo de diagnóstico e terapêutico baseado na Classificação da OMS de 2008 para Distúrbios Eosinofílicos.⁸

Do ponto de vista da etiologia clonal/ primária de eosinofilia e de acordo com a classificação da OMS, revista em 2008, existem três grandes grupos de Neoplasias Mielóides associadas a eosinofilia (Tabela 2). Em primeiro lugar considera-se uma categoria criada em 2008 - Neoplasias Mielóides e Linfóides associadas a Eosinofilia e anormalidades genéticas recorrentes do PDGFRA, PDGFRB ou FGFR1²³. Em segundo lugar considera-se a Leucemia Crônica Eosinofílica *not otherwise specified* (LEC-NOS), uma neoplasia mieloproliferativa cuja definição inclui: ausência do cromossoma Filadélfia (presente na LMC) ou de rearranjos do PDGFRA/B e FGFR1; exclusão de neoplasia mielóide associada a eosinofilia; evidência de aumento do número de blastos na medula; evidência de clonalidade da população eosinofílica²⁴. Se assumida a exclusão das restantes causas mencionadas (tanto clonais como

reactivas) e se se evidenciar CAE > 1500/mm³ com duração de pelo menos 6 meses (hipereosinofilia) e lesão concomitante de tecido considera-se o Síndrome Hipereosinofílico Idiopático (SHEi), um diagnóstico de exclusão²⁴.

TABLE II. 2008 World Health Organization Classification of Eosinophilic Disorders

Myeloid and lymphoid neoplasms with eosinophilia and abnormalities of PDGFRA, PDGFRB, or FGFR1
Diagnostic criteria of an MPN^a with eosinophilia associated with FIPIL1-PDGFRB
A myeloproliferative neoplasm with prominent eosinophilia
AND
Presence of a FIPIL1-PDGFRB fusion gene ^b
Diagnostic criteria of MPN associated with ETV6-PDGFRB fusion gene or other rearrangement of PDGFRB
A myeloproliferative neoplasm, often with prominent eosinophilia and sometimes with neutrophilia or monocytosis
AND
Presence of t(5;12)(q31~q33;p12) or a variant translocation ^c or, demonstration of an ETV6-PDGFRB fusion gene or rearrangement of PDGFRB
Diagnostic criteria of MPN or acute leukemia associated with FGFR1 rearrangement
A myeloproliferative neoplasm with prominent eosinophilia and sometimes with neutrophilia or monocytosis
OR
Acute myeloid leukemia or precursor T-cell or precursor B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma (usually associated with peripheral blood or bone marrow eosinophilia)
AND
Presence of t(8;13)(p11;q12) or a variant translocation leading to FGFR1 rearrangement demonstrated in myeloid cells, lymphoblasts, or both
Chronic Eosinophilic Leukemia, Not Otherwise Specified (NOS)
1. There is eosinophilia (eosinophil count >1.5 × 10 ⁹ /L)
2. There is no Ph chromosome or BCR-ABL fusion gene or other myeloproliferative neoplasms (PV, ET, PMF, systemic mastocytosis) or MDS/MPN (CMML or atypical CML)
3. There is no t(5;12)(q31~q33;p12) or other rearrangement of PDGFRB
4. There is no FIPIL1-PDGFRB fusion gene or other rearrangement of PDGFRB
5. There is no rearrangement of FGFR1
6. The blast cell count in the peripheral blood and bone marrow is less than 20% and there is no inv(16)(p13q22) or t(16;16)(p13;q22) or other feature diagnostic of AML
7. There is a clonal cytogenetic or molecular genetic abnormality, or blast cells are more than 2% in the peripheral blood or more than 5% in the bone marrow.
Idiopathic Hypereosinophilic Syndrome (HES)
Exclusion of the following:
1. Reactive eosinophilia
2. Lymphocyte-variant hypereosinophilia (cytokine-producing, immunophenotypically aberrant T-cell population)
3. Chronic eosinophilic leukemia, NOS
4. WHO-defined myeloid malignancies associated eosinophilia (e.g., MDS, MPNs, MDS/MPNs, or AML)
5. Eosinophilia-associated MPNs or AML/ALL with rearrangements of PDGFRA, PDGFRB, or FGFR1
6. The absolute eosinophil count of >1,500/mm ³ must persist for at least 6 months and tissue damage must be present. If there is no tissue damage, idiopathic hypereosinophilia is the preferred diagnosis.

^a Patients presenting with acute myeloid leukemia or lymphoblastic leukemia/lymphoma with eosinophilia and a FIPIL1-PDGFRB fusion gene are also assigned to this category

^b If appropriate molecular analysis is not available, this diagnosis should be suspected if there is a Ph-negative MPN with the hematological features of chronic eosinophilic leukemia associated with splenomegaly, a marked elevation of serum vitamin B12, elevation of serum tryptase and increased bone marrow mast cells.

^c Because t(5;12)(q31~q33;p12) does not always lead to an ETV6-PDGFRB fusion gene, molecular confirmation is highly desirable. If molecular analysis is not available, this diagnosis should be suspected if there is a Ph-negative MPN associated with eosinophilia and with a translocation with a 5q31-33 breakpoint.

Tabela 2 - Classificação dos Distúrbios Eosinofílicos (OMS 2008).⁸

As Neoplasias Mielóides e Linfóides associadas a Eosinofilia e anormalidades genéticas recorrentes do PDGFRA, observadas previamente na literatura em cerca de 23% dos doentes com HE^{12,25-31}, são tipicamente caracterizadas pela deleção cromossômica que resulta na produção de F/P. Expressam-se mais comumente como Leucemia Eosinofílica Crónica (LEC), no entanto estão descritos casos em que se apresentam como Leucemia Mielóide Aguda (LMA), LLA-T e ainda Leucemia Mielomonocítica Crónica¹³. São uma causa rara de eosinofilia, sendo que 10% dos doentes com eosinofilia de etiologia desconhecida apresentam algum tipo de rearranjo da PDGFRA¹³. É mais comum em homens, com um rácio homem: mulher de 17:1 e com incidência máxima entre os 25 e os 55 anos de idade³². Esta disparidade entre géneros ainda está por esclarecer. Trata-se de uma mutação adquirida, no entanto a sua etiologia

ainda não é completamente compreendida. Na literatura estão relatados vários casos de aparecimento do rearranjo F/P após quimioterapia citotóxica e radioterapia^{33,34}.

O transcrito de fusão F/P, gerado por uma deleção intersticial no cromossoma 4q12, pela primeira vez descrito por Cools et al. em 2003, é uma tirosina quinase constitutivamente activada¹². O mecanismo molecular subjacente à sua capacidade mieloproliferativa parece resultar da activação de múltiplas vias de transdução de sinal intracelular em células hematopoiéticas, nomeadamente o ERK 1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*), STAT5 (*signal transducer and activator of transcription 5*), PKB/c-akt (*protein kinase B*), Fosfatidilinositol-3-quinase e MAPK (*p38 mitogen-activated protein kinase*). Estudos recentes demonstraram também que tanto o JAK2 como a tirosina fosfatase SHP2 são importantes mediadores do crescimento e função eosinofílica e transformação celular em doentes F/P positivos, respectivamente^{35,36}. Esta activação em cascata de múltiplas vias de sinalização intracelular resulta na formação de colónias de um modo citocina independente³⁷. A presença deste rearranjo parece apresentar um envolvimento multilinhagem, podendo afectar células estaminais pluripotentes que originam células mielóides ou linfóides. Num artigo publicado em 2007 por Metzgeroth et al. foi detectada a presença deste transcrito de fusão tanto em células mielóides num quadro de LMA como em Linfócitos T num quadro de LLA-T. Esta constatação é esclarecedora do facto de que as doenças F/P positivas parecem representar, à semelhança da LMC, uma doença de células estaminais³⁸. No entanto, pode ocorrer envolvimento de uma linhagem específica, fenómeno que varia de doente para doente, sendo que apenas os eosinófilos e mastócitos são sensíveis ao sinal proliferativo. A razão pela qual existe uma expansão preferencial destas linhagens ainda está por esclarecer³⁹. O F/P emergiu como o segundo transcrito de fusão mais comumente encontrado em neoplasias mielóides, atrás apenas do BCR-ABL1 presente na LMC⁴⁰. De facto, a estrutura da proteína F/P é semelhante ao BCR-ABL1, ETV6-PDGFRB e ZNF198-FGFR1 (rearranjos comuns do PDGFRB e FGFR1, respectivamente). Contudo não apresenta a oligomerização homotípica que activa os domínios tirosina quinase destas proteínas de fusão^{41,42}. No caso do F/P observou-se que a interrupção do domínio justamembranar da PDGFRA, através de mutações ou duplicações, é indispensável para a sua actividade quinase. A fusão FIP1L1 com a PDGFRA culmina por isso numa tirosina quinase constitutivamente activada apenas se o domínio justamembranar da PDGFRA for parcial ou completamente removido⁴³. A porção FIP1L1 é dispensável para a activação

constitutiva desta quinase uma vez que a porção C-terminal do PDGFRA possui a capacidade de formar um homodímero por si própria. Contudo, a porção FIP1L1, ao ter a capacidade de se associar a outras moléculas a nível intranuclear, parece contribuir para a elevada actividade proliferativa das células que apresentam este transcrito de fusão⁴⁴. Existem vários tipos de fusão F/P, sendo que a deleção começa no gene do FIP1L1 em vários *break points* possíveis (do exão 7 ao 12) e acaba numa pequena região do exão 12 do PDGFRA⁴⁰. Apesar dos *breaks points* do gene do FIP1L1 variarem de doente para doente, o uso de uma combinação de *primer* específica é suficiente para detectar o transcrito de fusão na maioria dos casos. Através da técnica de FISH com sonda para o gene CHIC2 (que se encontra na região delectada) é possível detectar-se este rearranjo⁴⁵. Contudo em alguns doentes pode ser difícil a sua identificação devido à baixa expressão deste gene de fusão e à heterogeneidade dos *breaks points* do FIP1L1. Deste modo, uma combinação da técnica de FISH e RT-PCR providenciam o melhor método de identificação do F/P. Para monitorização da resposta da doença à terapêutica os métodos de eleição são o RT-PCR ou RT-PCR quantitativo⁴⁶.

No caso apresentado, este transcrito de fusão é identificado no contexto exclusivo de eosinofilia medular, sem repercussão periférica, sintomatologia de relevo ou documentação de infiltração de órgão. Clinicamente, as Neoplasias Mielóides associadas a rearranjos da PGDFRA apresentam classicamente eosinofilia periférica, envolvimento medular e lesão de órgão-alvo. Os eosinófilos apresentam anormalidades morfológicas típicas como: diminuição da granulação; grânulos de reduzido tamanho; grânulos imaturos com descoloração roxa à coloração Romanowsky; vacuolização citoplasmática e/ou hiper/hiposegmentação nuclear. O mielograma revela tipicamente: hiper celularidade com aumento do número de eosinófilos e percursores, que revelam maturação ordenada na maioria dos casos; fibrose da reticulina aumentada; aglomerados mastocitários morfolologicamente anormais com expressão aberrante de CD25, tal como na Mastocitose Sistémica¹³. Analiticamente, níveis séricos elevados de vitamina B12 e/ou triptase, anemia e trombocitopenia são frequentes ao passo que monocitose e basofília são achados pouco comuns. Os níveis de IgE são variáveis¹³. A lesão de órgão-alvo mediada por eosinófilos (coração 58%, pele 56%, sistema nervoso 54%, pulmões 49%, baço 43% e olho e tracto gastrointestinal 20-30%) tem sido descrita como frequente nesta entidade^{46,47}. A hepatoesplenomegália é um achado particularmente comum⁴⁸. Em comparação com doentes com hipereosinofilia F/P negativa, na presença do transcrito o

envolvimento pulmonar e dermatológico e a existência de esplenomegália são menos comuns²⁷. Helbig et al. em 2009 estudou a presença do F/P em 77 doentes com hipereosinofilia de longa evolução e analisou as características clínicas e serológicas da subpopulação F/P positiva que correspondeu a 16 doentes. Nestes detectou-se que: os sintomas clínicos eram raros, com apenas 2 doentes com sintomas constitucionais (tosse); atingimento de órgão-alvo em 13 doentes, destacando-se esplenomegália em 11. À semelhança do que foi observado no caso que se apresenta, os autores deste estudo concluíram que nos doentes F/P positivos a presença de sintomas clínicos significativos é pouco frequente e que em alguns a CAE inicial é baixa e não se desenvolve lesão de órgão eosinofílica⁴⁹.

A presença da anormalidade do PDGFRA no caso descrito associa-se de forma atípica e inesperada a ausência de eosinofilia periférica e lesão de órgão-alvo, classicamente observada nas Neoplasias Mielóides e Linfóides associada a eosinofilia e anormalidades genéticas do PDGFRA. Até à data, foi apenas reportado na literatura um outro caso de detecção do F/P num doente sem eosinofilia periférica proeminente e persistente⁵⁰.

Neste contexto, enfatizam-se alguns achados relevantes que podem explicar a apresentação atípica. Estudos realizados em murinos revelaram os seguintes dados: a expressão de F/P na medula óssea resulta apenas em mieloproliferação sem eosinofilia periférica⁵¹; a expressão de F/P conjuntamente com a sobreprodução de IL-5 mimetiza com maior precisão estas neoplasias mielóides, com achados típicos como infiltração tecidual de eosinófilos⁵². Um outro estudo revelou que um polimorfismo de um locus do IL5RA (*IL-5 receptor alpha*) parece estar relacionada com o CAE e/ou grau de infiltração tecidual de eosinófilos em doentes F/P positivos⁵³. Estes dados sugerem que a expressão do transcrito de fusão mutante isoladamente pode não ser suficiente para explicar o desenvolvimento de um quadro LEC *like* e que outros factores, como a citocina inflamatória IL-5, parecem estar envolvidos ou pelo menos influenciar a gravidade da doença. Estes dados estão em concordância com o papel já conhecido da IL-5 como o principal interveniente da migração eosinofílica da medula óssea para o sangue periférico⁵⁴. Adicionalmente, é sabido que a IL-5 produzida em locais de inflamação alérgica ou infecção helmíntica repercute-se a nível medular num aumento da migração de eosinófilos⁵⁵. Sugere-se por isso que adicionalmente à expressão do F/P, seja

necessário algum evento (mutação ou polimorfismo) que resulte na sobreprodução de IL-5 para originar um fenótipo completo desta nova categoria de neoplasia mielóide.

Salienta-se ainda o facto de poder existir eosinofilia tecidual sem eosinofilia periférica. É sabido que em casos de doenças alérgicas como a rinite alérgica, asma e dermatite atópicas, os níveis periféricos de eosinófilos podem apresentar-se apenas moderadamente aumentados mas associados a níveis superiores na expectoração, secreções nasais e lavado bronco-alveolar⁵⁴. Estes dados estão em concordância com dois casos clínicos reportados na literatura: um de Pneumonia Aguda Eosinofílica em que a CAE inicial era normal, existindo porém eosinofilia tecidual e no lavado bronco-alveolar⁵⁶; outro de Endocardite Eosinofílica Idiopática com necessidade de substituição da válvula mitral com CAE dentro dos valores de referência⁵⁷. Estes dados sugerem uma rápida capacidade de infiltração tecidual por parte dos eosinófilos, podendo coexistir valores normais de eosinófilos periféricos e eosinofilia tecidual.

Antes do uso do TKI Imatinib nesta patologia, o prognóstico dos doentes HE e alterações do PDGFRA era reservado, com uma taxa de mortalidade aos 5 anos de 30-50%, principalmente devido a complicações cardíacas e neurológicas^{26,58}. A pertinência da detecção do F/P prende-se precisamente com a elevada sensibilidade destes doentes aos TKI. Na verdade, o Imatinib, originalmente utilizado como terapêutica farmacológica de primeira linha na LMC e com elevada taxa de resposta⁵⁹, inibe a actividade do F/P de um modo 100 vezes superior em comparação com o transcrito de fusão BCR-ABL1¹². Trata-se do tratamento de eleição em doentes F/P positivos, havendo respostas marcadas com remissão clínica, hematológica e molecular em praticamente todos os casos descritos na literatura^{12,30,60}. Geralmente ocorre melhoria clínica e hematológica num espaço entre 2 a 4 semanas e remissão molecular entre 3 a 6 meses⁶¹. Num estudo prospectivo realizado por Baccarani et al. em 2007 avaliou-se a resposta terapêutica em 27 doentes F/P positivos submetidos a uma dose diária inicial de Imatinib de 100mg e final de 400mg (follow-up mediano de 25 meses). Todos os doentes atingiram remissão hematológica ao fim de 1 mês e remissão molecular aos 3 meses, que se manteve durante os cerca de 19 meses de terapêutica. Em 3 destes doentes a terapêutica foi descontinuada ao fim de 12, 14 e 15 meses, ocorrendo recidiva molecular ao fim de 4, 2 e 6 meses, respectivamente. Nestes 3 casos a terapêutica foi reiniciada com uma dose diária de 200mg e ocorreu nova remissão molecular após de 2, 5 e 2 meses, respectivamente. Os autores deste estudo concluíram que embora negatividade molecular não equivalha a cura é o melhor marcador

da qualidade de resposta terapêutica, que a remissão molecular é duradoura e estável em mas dependente da continuidade da terapêutica e que em praticamente todos os doentes uma dose mínima de 100mg/dia de Imatinib é suficiente para atingir e manter remissão hematológica, clínica e molecular completa²⁷. Num outro estudo realizado por Jovanovic et al. no mesmo ano revelou-se que todos os doentes F/P positivos, submetidos a uma dose diária de Imatinib de 100 a 400mg durante 12 meses, apresentaram uma redução drástica dos níveis séricos do transcrito de fusão, tendo que 82% atingiram remissão molecular³¹. Estes dados revelaram que apesar de a terapêutica ser eficaz do ponto vista clínico-hemato-molecular, a sua interrupção resulta em recidiva da doença. No entanto a reinstituição da terapêutica permite nova e rápida remissão molecular. Estes dados apontam para o facto de o Imatinib ser capaz de suprimir, mas não eliminar, o clone F/P, sendo por conseguinte necessária uma terapêutica continuada. Até à data apenas um estudo revelou que a interrupção do Imatinib pode eventualmente resultar em remissão molecular e hematológica de longa duração em doentes LEC F/P positivos⁶². Uma dose de manutenção entre 100 e 200mg por dia parece ser suficiente para a maioria destes doentes⁶³. Contudo, o regime de Imatinib continua um tema de debate, no que respeita à sua dose inicial, à segurança de uma baixa dosagem de manutenção e ao *timing* do início terapêutico. Apesar de não haver consenso, é aconselhável a sua instituição precoce, mesmo em doentes assintomáticos. De um modo geral, o perfil de segurança desta terapêutica é sobreponível à realizada em doentes com LMC. Trata-se de uma terapêutica de custo elevado, o que coloca obstáculos à adesão e continuação. Dada à sua especificidade estão relatados poucos casos de efeitos adversos. No entanto, existem relatos de toxicidade cardíaca e choque cardiogénico após instituição da terapêutica em doentes F/P positivos^{64,65,66}. A biópsia endomiocárdica revelou lesão miocitária, aparentemente devido a uma resposta inflamatória aguda ao Imatinib resultante de uma desgranulação súbita e massiva dos eosinófilos infiltrados no tecido cardíaco. Doses elevadas de corticoesteróides resultaram na melhoria da função cardíaca e recuperação clínica. Neste momento está por isso preconizado o uso profilático de corticoesteróides (prednisolona oral 1mg/kg/dia) durante os primeiros 7 a 10 dias da terapêutica com este TKI em doentes com doença cardíaca conhecida e/ou níveis séricos elevados de troponina T⁶⁷.

A resistência primária ou adquirida ao Imatinib é extremamente rara em doentes F/P positivos. Até à data, foi relatado um único caso de resistência primária, que envolveu a presença das mutações S601P e L629P⁶⁸. Quanto à resistência adquirida, o mecanismo

mais comum é a mutação T674I da PDGFRA, homóloga à T315I do BCR-ABL, que também confere resistência a TKI de segunda linha como o Dasatinib⁶⁹. Os clones T674I são sensíveis *in vitro* a TKIs de segunda linha como o Sorafenib, Nilotinib e Midostaurin⁷⁰ mas a sua utilização em estudos pré-clínicos tem sido desencorajadora. A maioria dos casos de resistência adquirida ao Imatinib conhecidos ocorreu dentro de um ano após instituição da terapêutica na fase acelerada/blástica da doença¹³. É de salientar que a utilização de doses subótimas de Imatinib pode acelerar o aparecimento de mutações e deste modo facilitar a transformação numa crise blástica⁷¹. A única outra mutação conhecida que confere resistência adquirida ao Imatinib é a D842V, descrita num doente com a mutação T674I do PDGFRA em fase blástica que respondeu temporariamente ao Sorafenib mas que evoluiu rapidamente para este mutante panresistente⁷². Nos doentes F/P positivos refractários à terapêutica com Imatinib é aconselhável e prioritário o Transplante Alogénico Estaminal. Existe um caso descrito em que esta abordagem resultou em remissão molecular completa pós-transplante num doente com o diagnóstico de SHEi no qual retrospectivamente se detectou a existência do transcrito de fusão F/P⁷³.

No caso que se apresenta, a identificação do transcrito de fusão F/P na ausência de eosinofilia periférica questiona a abrangência da presente classificação da OMS para Neoplasias Mielóides, nomeadamente o grupo “Neoplasias Mielóides e Linfóides associadas a eosinofilia e rearranjos do PGDFRA, PGDFRB ou FGFR1” criado em 2008. O desafio diagnóstico implica adicionalmente questões de grande relevo terapêutico. A instituição precoce de Imatinib é uma atitude amplamente praticada em doentes F/P positivos. Contudo, a doente não apresenta eosinofilia periférica, sintomatologia ou infiltração de órgão documentadas, ficando sob discussão a pertinência e o *timing* adequado para o início da terapêutica com o inibidor da tirosina quinase Imatinib.

Trata-se por isso de um caso particular ao salientar algumas limitações da presente classificação da OMS para estas neoplasias e as dúvidas em torno da abordagem terapêutica, reforçando-se assim a necessidade da investigação nesta área da Hematoncologia.

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer à minha Mãe o incentivo e o entusiasmo que depositou em mim durante o meu percurso académico.

Em segundo lugar agradeço à minha orientadora de tese, a Doutora Catarina Mota, pela orientação e disponibilidade durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Por último agradeço ao serviço de Medicina II-B, à Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa e em particular ao Professor Rui Victorino pelo auxílio na escolha de tema e orientador e por ter aceite a realização desta Tese Final de Mestrado.

Bibliografia

1. Ogbogu P, Bochner B. Hypereosinophilic syndromes: a multicenter, retrospective analysis of clinical characteristics and response to therapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(6):1-17. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.022.Hypereosinophilic.
2. Valent P, Klion AD, Horny H-P, et al. Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(3):607-612.
3. Brito-Babapulle F. The eosinophilias, including the idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Br J Haematol*. 2003;121(2):203-223. doi:10.1046/j.1365-2141.2003.04195.x.
4. Chusid MJ, Dale DC, West BC, Wolff SM. The hypereosinophilic syndrome: analysis of fourteen cases with review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 1975;54(1):1-27. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1090795>.
5. Valent P. Pathogenesis, classification, and therapy of eosinophilia and eosinophil disorders. *Blood Rev*. 2009;23(4):157-165.
6. Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol*. 2006;133(5):468-492.
7. Lombardi C, Passalacqua G. Eosinophilia and Diseases: Clinical Revision of 1862 Cases. *Arch Intern Med*. 2003;163(11):1371-1373.
8. Gotlib J. CME Information: WHO-defined eosinophilic disorders: 2014 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2014;89(3):325-337.
9. Montgomery ND, Dunphy CH, Mooberry M, et al. Diagnostic Complexities of Eosinophilia. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(2):259-269.
10. Jin JJ, Butterfield JH, Weiler CR. Hematologic Malignancies Identified in Patients with Hypereosinophilia and Hypereosinophilic Syndromes. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(6):920-925.
11. Vardiman JW, Thiele J, Arber D a, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia:

- rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-951.
doi:10.1182/blood-2009-03-209262.
12. Hickok J, Avery TR, Lankiewicz J, et al. A Tyrosine Kinase Created by Fusion of the PDGFRA and F1P1L1 Genes as a Therapeutic Target of Imatinib in Idiopathic Hypereosinophilic Syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(13):1201-1214.
 13. Savage N, George TI, Gotlib J. Myeloid neoplasms associated with eosinophilia and rearrangement of PDGFRA, PDGFRB, and FGFR1: a review. *Int J Lab Hematol*. 2013;35(5):491-500.
 14. Roufosse F, Cogan E, Goldman M. Lymphocytic variant hypereosinophilic syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2007;27(3):389-413.
 15. Ten S, New M, McLaren N. Addison 's Disease 2001. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(7):2909-2922.
 16. Spry C. Eosinophilia in Addison's disease. *Yale J Biol Med*. 1976;49(4):411-413.
 17. Shenker Y, Skatrud J. Adrenal Insufficiency in Critically Ill Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1520-1523.
 18. Simon D, Wardlaw A, Rothernberg ME. Organ-specific eosinophilic disorders of the skin, lung and gastrointestinal tract. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(1):3-13.
 19. Campos LEM, Pereira LFF. Pulmonary Eosinophilia. *J Bras Pneumol*. 2009;35(6):561-573.
 20. Stefanini M, Claustro JC, Motos RA, Bendigo LL. Blood and Bone Marrow Eosinophilia in Malignant Tumors. Role and Nature of Blood and Tissue Eosinophil Colony-Stimulating Factor(s) in Two Patients. *Cancer*. 1991;68(3):543-548.
 21. Roufosse F, Garaud S, Leval L de. Lymphoproliferative Disorders Associated With Hypereosinophilia. *Semin Hematol*. 2012;49(2):138-148.
 22. Simon H-U, Sabine GP, Reinhard D, Blaser K. Abnormal Clones of T Cells Producing Interleukin-5 in Idiopathic Eosinophilia. *N Engl J Med*.

- 1999;341(15):1112-1120.
23. Bain BJ. Myeloid and lymphoid neoplasms with eosinophilia and abnormalities of PDGFRA, PDGFRB or FGFR1. *Haematologica*. 2010;95(5):696-698.
 24. Dunphy CH. Chronic Eosinophilic Leukemia , Not Otherwise Specified (CEL , NOS). *Curr Cancer Ther Rev*. 2012;8(1):30-34.
 25. Pardanani A, Brockman SR, Paternoster SF, et al. FIP1L1-PDGFR fusion : prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosinophilia FIP1L1-PDGFR fusion : prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosino. *Blood*. 2004;104(10):3038-3045.
 26. Vandenberghe P, Wlodarska I, Michaux L, et al. Clinical and molecular features of FIP1L1-PDFGRA (+) chronic eosinophilic leukemias. *Leukemia*. 2004;18(4):734-742.
 27. Baccarani M, Cilloni D, Rondoni M, et al. The efficacy of imatinib mesylate in patients with FIP1L1-PDGFR -positive hypereosinophilic syndrome. Results of a multicenter prospective study. *Haematologica*. 2007;92(9):1173-1179.
 28. Starza R La, Specchia G, Cueno A, et al. The Hypereosinophilic Syndrome: in situ hybridization detects the del(4)(q12)-FP1L1/PDGFR but not genomic rearrangements of other tyrosine kinases. *Haematologica*. 2005;90(5):596-306.
 29. Roche-Lestienne C, Lepers S, Soenen-Cornu V, et al. Molecular characterization of the idiopathic hypereosinophilic syndrome (HES) in 35 French patients with normal conventional cytogenetics. *Leukemia*. 2005;19(5):792-798.
 30. Pardanani a, Ketterling RP, Li C-Y, et al. FIP1L1-PDGFR in eosinophilic disorders: prevalence in routine clinical practice, long-term experience with imatinib therapy, and a critical review of the literature. *Leuk Res*. 2006;30(8):965-970.
 31. Jovanovic J V., Score J, Waghorn K, et al. Low-dose imatinib mesylate leads to rapid induction of major molecular responses and achievement of complete molecular remission in FIP1L1-PDGFR-positive chronic eosinophilic leukemia. *Blood*. 2007;109(11):4635-4640.

32. Lekovic D, Bogdanovic A, Perunicic-Jovanovic M, Jankovic G, Gotic M, Elezovic I. Diagnostic Challenges during Pretreatment Long-term Follow-up in a Patient with FIP1L1-PDGFR α -positive Eosinophilia. *Intern Med*. 2015;54(6):637-642.
33. Tanaka Y, Kurata M, Togami K, et al. Chronic eosinophilic leukemia with the FIP1L1-PDGFR α fusion gene in a patient with a history of combination chemotherapy. *Int J Hematol*. 2006;83(2):152-155.
34. Balatzenko G, Stoyanov N, Bekrieva E, Guenova M. Chronic eosinophilic leukemia with FIP1L1-PDGFR α transcripts after occupational and therapeutic exposure to radiation. *Hematol Rep*. 2011;3(2).
35. Li B, Zhang G, Li C, et al. Identification of JAK2 as a mediator of FIP1L1-PDGFR α -induced eosinophil growth and function in CEL. *PLoS One*. 2012;7(4):e34912.
36. Noël L a, Arts F a, Montano-Almendras CP, et al. The tyrosine phosphatase SHP2 is required for cell transformation by the receptor tyrosine kinase mutants FIP1L1-PDGFR α and PDGFR α D842V. *Mol Oncol*. 2014;8(3):728-740.
37. Buitenhuis M, Verhagen LP, Cools J, Coffey PJ. Molecular Mechanisms Underlying FIP1L1-PDGFR α -Mediated Myeloproliferation. *Cancer Res*. 2007;67(8):3759-3766.
38. Metzgeroth G, Walz C, Score J, et al. Recurrent finding of the FIP1L1-PDGFR α fusion gene in eosinophilia-associated acute myeloid leukemia and lymphoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia*. 2007;21(6):1183-1188.
39. Robyn J, Lemery S, McCoy JP, et al. Multilineage involvement of the fusion gene in patients with FIP1L1/PDGFR α -positive hypereosinophilic syndrome. *Br J Haematol*. 2006;132(3):286-292.
40. Walz C, Score J, Mix J, et al. The molecular anatomy of the FIP1L1-PDGFR α fusion gene. *Leukemia*. 2009;23(2):271-278.
41. Golub TR, Goga A, Barker GF, et al. Oligomerization of the ABL tyrosine kinase by the Ets protein TEL in human leukemia. *Mol Cell Biol*. 1996;16(8):4107-4116.

42. McWhirter JR, Galasso DL, Wang JY. A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins. *Mol Cell Biol.* 1993;13(12):7587-7595.
43. Stover EH, Chen J, Folens C, et al. Activation of FIP1L1-PDGFRalpha requires disruption of the juxtamembrane domain of PDGFRalpha and is FIP1L1-independent. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(21):8078-8083.
44. Hematol A, Iwasaki J, Kondo T, Darmanin S. FIP1L1 presence in FIP1L1-RARA or FIP1L1-PDGFRalpha differentially contributes to the pathogenesis of distinct types of leukemia. *Ann Hematol.* 2014;93(9):1473-1481.
45. Pardanani A, Ketterling RP, Brockman SR, et al. CHIC2 deletion, a surrogate for FIP1L1-PDGFRalpha fusion, occurs in systemic mastocytosis associated with eosinophilia and predicts response to imatinib mesylate therapy. *Blood.* 2003;102(9):3093-3096.
46. Gotlib J, Cools J. Five years since the discovery of FIP1L1-PDGFRalpha : what we have learned about the fusion and other molecularly defined eosinophilias. *Leukemia.* 2008;22(11):1999-2010.
47. Gotlib J, Cools J, Malone JM, Schrier SL, Gilliland DG, Coutre SE. The FIP1L1-PDGFRalpha fusion tyrosine kinase in hypereosinophilic syndrome and chronic eosinophilic leukemia: implications for diagnosis, classification, and management. *Blood.* 2004;103(8):2879-2891.
48. Tefferi A, Gotlib J, Pardanani A. Hypereosinophilic syndrome and clonal eosinophilia: point-of-care diagnostic algorithm and treatment update. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(2):158-164.
49. Helbig G, Moskwa A, Hus M, Piszcz J, Swiderska A. Clinical characteristics of patients with chronic eosinophilic leukaemia (CEL) harbouring FIP1L1-PDGFRalpha fusion transcripts - results of Polish multicentre study. *Hematol Oncol.* 2010;28(2):93-97.
50. Rudzki Z, Giles L, Cross NCP, Lumley M. Myeloid neoplasm with rearrangement of PDGFRalpha, but with no significant eosinophilia: should we broaden the World Health Organization definition of the entity? *Br J Haematol.* 2012;156(5):558-558.

51. Cools J, Stover EH, Boulton CL, et al. PKC412 overcomes resistance to imatinib in a murine model of FIP1L1-PDGFR α -induced myeloproliferative disease. *Cancer Cell*. 2003;3(5):459-469.
52. Yamada Y, Rothenberg ME, Lee AW, et al. The FIP1L1-PDGFR α fusion gene cooperates with IL-5 to induce murine hypereosinophilic syndrome (HES)/ chronic eosinophilic leukemia The FIP1L1-PDGFR α fusion gene cooperates with IL-5 to induce murine hypereosinophilic syndrome (HES)/ chronic eosinophi. *Blood*. 2006;107(10):4071-4079.
53. Burgstaller S, Kreil S, Waghorn K, et al. The severity of FIP1L1-PDGFR α -positive chronic eosinophilic leukaemia is associated with polymorphic variation at the IL5RA locus. *Leukemia*. 2007;21(12):2428-2432.
54. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):S73-S80.
55. Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(6):1303-1310.
56. Buelow BJ, Kelly BT, Zafra HT, Kelly KJ. Absence of Peripheral Eosinophilia on Initial Clinical Presentation does not rule out the Diagnosis of Acute Eosinophilic Pneumonia. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(4):597-598.
57. Fuzellier J-F, Chapoutot L, Torossian P-F, Metz D, Baehrel B. Mitral valve replacement in idiopathic eosinophilic endocarditis without peripheral eosinophilia. *J Card Surg*. 2005;20(5):472-474.
58. Klion AD, Noel P, Akin C, et al. Elevated serum tryptase levels identify a subset of patients with a myeloproliferative variant of idiopathic hypereosinophilic syndrome associated with tissue fibrosis, poor prognosis, and imatinib responsiveness. *Blood*. 2003;101(12):4660-4666.
59. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Bin Peng RN, Buchdunger E. Efficacy and Safety of a Specific Inhibitor of the Bcr-Abl Tyrosine. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1031-1037.
60. Klion AD, Robyn J, Akin C, et al. Molecular remission and reversal of myelofibrosis in response to imatinib mesylate treatment in patients with the

- myeloproliferative variant of hypereosinophilic syndrome. *Blood*. 2004;103(2):473-478.
61. Klion AD. Eosinophilic myeloproliferative disorders. *ASH Educ Progr B*. 2011;2011(1):257-263.
 62. Legrand F, Renneville A, Macintyre E, et al. The Spectrum of FIP1L1-PDGFR α -Associated Chronic Eosinophilic Leukemia: New Insights Based on a Survey of 44 Cases. *Medicine (Baltimore)*. 2013;92(5):e1-e9.
 63. Helbig G, Stella-Hołowicka B, Majewski M, et al. A single weekly dose of imatinib is sufficient to induce and maintain remission of chronic eosinophilic leukaemia in FIP1L1-PDGFR α -expressing patients. *Br J Haematol*. 2008;141(2):200-204.
 64. Kerkelä R, Grazette L, Yacobi R, et al. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med*. 2006;12(8):908-916.
 65. Oever J ten, Theunissen LJHJ, Tick LW, Verbunt RJA. Cardiac involvement in hypereosinophilic syndrome. *Neth J Med*. 2011;69(5):240-244.
 66. Pardanani A, Reeder T, Porrata LF, et al. Imatinib therapy for hypereosinophilic syndrome and other eosinophilic disorders. *Blood*. 2003;101(9):3391-3397.
 67. Ohnishi H, Kandabashi K, Maeda Y, Kawamura M, Watanabe T. Chronic eosinophilic leukaemia with FIP1L1-PDGFR α fusion and T674I that evolved from Langerhans cell histiocytosis with eosinophilia after chemotherapy. *Br J Haematol*. 2006;134(5):547-549.
 68. Dagmar S, Souzan S, Shida Y, Hans-Uwe S. Primary resistance to imatinib in Fip1-like 1–platelet-derived growth factor receptor α —positive eosinophilic leukemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(4):1054-1056.
 69. Jabbour E, Kantarjian H, Jones D, et al. Characteristics and Outcome of Patients with Chronic Myeloid Leukemia (CML) and T315I Mutation Following Failure of Imatinib Mesylate Therapy. *Blood*. 2008;112(1):53-55.
 70. Salemi S, Yousefi S, Simon D, et al. A novel FIP1L1-PDGFR α mutant destabilizing the inactive conformation of the kinase domain in chronic eosinophilic leukemia/hypereosinophilic syndrome. *Allergy*. 2009;64(6):913-918.

71. von Bubnoff N, Sandherr M, Schlimok G, Andreessen R, Peschel C, Duyster J. Myeloid blast crisis evolving during imatinib treatment of an FIP1L1-PDGFR alpha-positive chronic myeloproliferative disease with prominent eosinophilia. *Leukemia*. 2005;19(2):286-287.
72. Lierman E, Michaux L, Beullens E, et al. FIP1L1-PDGFRalpha D842V, a novel panresistant mutant, emerging after treatment of FIP1L1-PDGFRalpha T674I eosinophilic leukemia with single agent sorafenib. *Leukemia*. 2009;23(5):845-851.
73. Halaburda K, Prejzner W, Szatkowski D, Limon J, Hellmann A. Allogeneic bone marrow transplantation for hypereosinophilic syndrome: long-term follow-up with eradication of FIP1L1-PDGFR fusion transcript. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38(4):319-320.